

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載
【部門区分】第 3 部門第 2 区分
【発行日】平成 17 年 9 月 8 日 (2005.9.8)

【公表番号】特表 2002-501513(P2002-501513A)

【公表日】平成 14 年 1 月 15 日 (2002.1.15)

【出願番号】特願平 11-500040

【国際特許分類第 7 版】

A 6 1 K 35/38

A 6 1 K 49/00

A 6 1 L 27/00

A 6 1 P 9/04

C 1 2 N 1/04

C 1 2 N 5/06

// A 6 1 K 38/00

A 6 1 K 38/22

【F I】

A 6 1 K 35/38

A 6 1 K 49/00 Z

A 6 1 L 27/00 Z

A 6 1 P 9/04

C 1 2 N 1/04

C 1 2 N 5/00 E

A 6 1 K 37/24

A 6 1 K 37/02

【手続補正書】

【提出日】平成 17 年 1 月 19 日 (2005.1.19)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】補正の内容のとおり

【補正方法】変更

【補正の内容】

手続補正書

平成17年1月19日



特許庁長官殿

1. 事件の表示 平成11年特許願第500040号



2. 補正をする者

住 所 アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ケンブリッジ
ワン ケンダル スクエア
名 称 ジェンザイム コーポレーション
国 籍 アメリカ合衆国

3. 代理人

住 所 〒300-0847 茨城県土浦市卸町1-1-1

関鉄つくばビル6階

電話 (0298) 41-2001

氏 名 (10297) 弁理士 清水 初志



A297

4. 補正対象書類名 明細書

5. 補正対象項目名 請求の範囲

6. 補正の内容 別紙の通り



請求の範囲

1. 哺乳動物において安定的な心筋移植片を形成する方法であって、該哺乳動物の心臓内の癒痕組織に細胞を移植することを含み、該細胞が、成体心筋細胞、成体繊維芽細胞、胎児繊維芽細胞、平滑筋細胞、内皮細胞、または骨格筋芽細胞を含む方法。

2. 細胞が成体平滑筋細胞、胎児平滑筋細胞もしくは繊維芽細胞を含むか、成体心筋細胞及び内皮細胞が共移植されるか、成体心筋細胞が成体心房組織もしくは心室組織に由来するか、移植片が、自己移植、同種異系移植もしくは異種組織移植に由来するか、細胞が、直接的に癒痕組織に導入されるか、該移植片が自己移植由来の成体心筋細胞を含むか、該細胞が生物分解性もしくは非生物分解性のメッシュ上で懸濁されるか、該細胞がトランスフェクトされて組換え分子を該心筋組織もしくは該癒痕組織に輸送するか、該細胞が心筋再構築手術に使用されるか、該細胞が該癒痕組織の外表面に生物学的接着剤で接着されるか、該細胞が該心筋組織内の炎症反応後移植されるか、または該細胞と共に増殖因子が共移植される、請求項1記載の方法。

3. 心筋細胞が心房組織に由来する請求項2記載の方法。

4. 細胞が癒痕組織に注入により導入される請求項2記載の方法。

5. 請求項4記載の方法であって、前記細胞の漏洩を防ぐために注入部位が生物分解性の接着剤で封印される方法。

6. 増殖因子が、インシュリン様増殖因子I及びII、トランスフォーミング増殖因子1、血小板由来増殖因子B、塩基性繊維芽増殖因子、及び血管内皮増殖因子からなる群より選択される、請求項2記載の方法。

7. 哺乳類の心臓内の癒痕組織に使用するための治療的移植片であって、該移植片が移植された細胞を含み、該細胞が成体心筋細胞、成体繊維芽細胞、胎児繊維芽細胞、平滑筋細胞、内皮細胞、または骨格筋芽細胞を含む移植片。

8. 移植片が成体心筋細胞及び内皮細胞を含むか、移植細胞が平滑筋細胞もしくは胎児繊維芽細胞を含むか、成体心筋細胞が心房組織もしくは心室組織に由来するか、移植片が、自己移植、同種異系移植もしくは異種組織移植に由来するか、移植片が自己移植に由来する成体心筋細胞を含むか、該心筋細胞が心房組織もし

くは心室組織に由来するか、該細胞が該瘢痕組織に注入により導入されるか、該細胞がトランスフェクトされて組換え分子を該心筋組織もしくは該瘢痕組織に輸送するか、該移植片が増殖因子をさらに含むか、または該細胞が生物分解性メッシュ上に懸濁される、請求項7記載の移植片。

9. 増殖因子が、インシュリン様増殖因子I及びII、トランスフォーミング増殖因子1、血小板由来増殖因子B、塩基性繊維芽増殖因子、及び血管内皮増殖因子からなる群より選択される、請求項8記載の移植片。

10. 哺乳類の心臓内の心筋組織または瘢痕組織への移植を目的とする治療的移植片であって、該移植片が、細胞をその上で支持する適した生物分解性または非生物分解性の足場を含み、該細胞が、成体心筋細胞、胎児心筋細胞、成体繊維芽細胞、胎児繊維芽細胞、平滑筋細胞、内皮細胞、または骨格筋芽細胞を含む治療的移植片。

11. 成体心筋細胞が心房組織もしくは心室組織に由来するか、移植片が成体心筋細胞及び成体内皮細胞を有するか、該移植片が心筋形成術における使用を目的とするものか、足場がポリ乳酸ポリマーを含むもしくは含まないダクロン (Dacron) もしくはポリグリコール酸ポリマーを有するか、細胞材料が心筋細胞、平滑筋細胞、もしくは内皮細胞から成り、該移植片が植え込み可能なペースメーカーをさらに含むか、該移植片が心欠陥を塞ぐために使用するものであるか、または該移植片が心筋再建術における使用を目的とするものである、請求項10記載の移植片。

12. 以下の段階を含む小児哺乳動物の心筋組織から心筋細胞を培養する方法：

- a) 心筋組織を細分化する段階、
- b) リン酸緩衝塩類溶液に溶解した0.2%トリプシン及び0.1%コラゲナーゼを含む消化液中で該組織を15分間消化し、残存心筋組織から消化された組織溶液を分離する段階、
- c) イスコブ改変ダルベッコ培地 (IMDM)、10%胎児ウシ血清、及び0.1mM β メルカプトエタノールを含む培養液を該消化組織溶液に加え、該培養液を容積にして培養液20に対して該消化溶液1の割合で加える段階、
- d) 得られた溶液を581xgで5分間遠心分離し、上清を廃棄する段階、

- e) ペレットを新しい培地に再懸濁する段階、
- f) 懸濁液を10%胎児ウシ血清及び0.1mM メルカプトエタノール中で培養する段階、
ならびに
- g) 培養液から心筋細胞を単離する段階。

13. 心筋細胞の継代をさらに含む請求項12記載の方法であって、該心筋細胞が、0.01%トリプシン、0.02%グルコース、及び0.5mM EDTAを含む継代培養酵素溶液で継代培養される方法。

14. 以下の段階により心筋細胞を保存することをさらに含む、請求項12記載の方法：

- a) 継代培養酵素溶液を用いて培養皿から培養心筋細胞を剥離する段階、
- b) 容量にして培養液5に対し継代培養酵素溶液1の比である培養液を加える段階、
- c) 得られた溶液を581xgで5分間遠心分離する段階、
- d) 上清を捨て、得られたペレットを、20%胎児ウシ血清及び20%グリセロールを含む1mLのIMDMに再懸濁する段階、及び
- e) 得られた懸濁液を液体窒素中で凍結し保存する段階。

15. 37℃で凍結試料を融解し、20%胎児ウシ血清を含有するIMDM溶液中で3日から5日間、心筋細胞を培養する段階をさらに含む、請求項14記載の方法。

16. 以下の段階を含む成体哺乳動物の心筋組織から心筋細胞を培養する方法：

- a) 心筋組織を細分化する段階、
- b) リン酸緩衝塩類溶液に溶解した0.2%トリプシン及び0.1%コラゲナーゼを含む消化液中で該組織を15分間消化する段階、
- c) 消化された組織溶液を分離し、新しい消化溶液で残存心筋組織を10分間消化する段階、
- d) (b) 及び(c) の段階で得られた消化組織溶液を合わせ、そこへイスコブ改変ダルベッコ培地 (IMDM)、10%胎児ウシ血清及び0.1mM メルカプトエタノールを含む培養液を加え、該培養液を容量にして培養液20に対して該消化溶液を1の割合で加える段階、
- e) 得られた溶液を581xgで5分間遠心分離し、上清を廃棄する段階、
- f) ペレットを新しい培養液に再懸濁する段階、

g)懸濁液を10%胎児ウシ血清及び0.1mM メルカプトエタノール中で培養する段階、
ならびに

h)培養液から心筋細胞を分離する段階。

17. 心筋細胞の継代をさらに含み、心筋細胞が、0.01%トリプシン、0.02%グルコース、及び0.5mM EDTAを含む継代培養酵素溶液で継代培養される、請求項16記載の方法。

18. 以下の段階をさらに含む、請求項16記載の方法：

a)該継代培養酵素溶液を用いて培養皿から培養心筋細胞を剥離する段階、

b)該培養液を加える段階であって、該培養液が容量にして培養液5に対し継代培養酵素溶液1の割合である段階、

c)得られた溶液を581xgで5分間遠心分離する段階、

d)上清を捨て、得られたペレットを、20%胎児ウシ血清及び20%グリセロールを含む1mLのIMDMに再懸濁する段階、ならびに

e)得られた懸濁液を液体窒素中で凍結し保存する段階。

19. 37℃で凍結試料を融解し、20%胎児ウシ血清を含有するIMDM溶液で3日から5日間、該心筋細胞を培養する段階をさらに含む、請求項18記載の方法。

20. 欠陥心臓組織、障害心臓組織、または瘢痕心臓組織を治療する方法であって、成体心筋細胞、成体繊維芽細胞、胎児繊維芽細胞、平滑筋細胞、内皮細胞、または骨格筋芽細胞を含む細胞の移植片を、該組織へ移植する段階を含む方法。

21. 成体心筋細胞が心房組織由来であるか、移植片内の細胞が成体心筋細胞及び成体内皮細胞であるか、該細胞が直接的に心臓組織へ導入されるか、または該移植片が生物学的に許容される生物分解性もしくは非生物分解性の足場上で懸濁された細胞を有する小片である請求項20記載の方法。

22. 以下の段階を含む請求項21記載の方法：

(a)欠陥心臓組織を外科的に除去し、それにより開口部を形成する段階、および

(b)移植片を該開口部に接着させ防水シールを形成させる段階。

23. 心筋瘢痕組織に移植するための、成体心筋細胞、成体繊維芽細胞、胎児繊維芽細胞、平滑筋細胞、内皮細胞、または骨格筋芽細胞からなる群より選択される単離細胞であって、該細胞が、心筋瘢痕組織へ移植された後、該心筋瘢痕組織

中で生存し、該細胞を移植しない類似の心筋瘢痕組織を有する心臓の心機能と比較して、該細胞が心機能を向上させ、該瘢痕組織が占める面積；該瘢痕組織の血管形成；該瘢痕組織への血液流入；発生した圧力、収縮期圧；拡張終期圧；ならびに dp/dt から成る群における基準の少なくとも一つにより心機能が測定される細胞。

24. 移植のための細胞が成体心筋細胞と内皮細胞との組合せから成る請求項23記載の細胞。

25. 薬剤を試験するための方法であって、該薬剤が心臓手術中の心臓への障害を予防または緩和するためのものであり、成体心筋細胞、成体繊維芽細胞、胎児繊維芽細胞、平滑筋細胞、内皮細胞、または骨格筋芽細胞を含む単離細胞へ該薬剤を暴露することを含み、該細胞が、心筋瘢痕組織への移植後、該心筋瘢痕組織中で生存し、該細胞を移植しない類似の心筋瘢痕組織を有する心臓の心機能と比較して、該細胞は心機能を向上させ、該瘢痕組織が占める面積；該瘢痕組織の血管形成；該瘢痕組織への血液流入；発生した圧力、収縮期圧；拡張終期圧；ならびに dp/dt から成る群における基準の少なくとも一つにより心機能が測定され、該薬剤に暴露しなかった細胞と比較して、該薬剤に暴露した細胞は心臓手術中の心臓障害が予防または緩和される方法。

26. 細胞が瘢痕組織へ移植される、請求項1または20記載の方法。

27. 移植4週間後に移植細胞が瘢痕組織の少なくとも10%を占めている請求項26記載の方法。

28. 移植4週間後に移植細胞が瘢痕組織の少なくとも20%を占めている請求項26記載の方法。

29. 移植4週間後に移植細胞が瘢痕組織の少なくとも30%を占めている請求項26記載の方法。

30. 哺乳動物において安定的な心筋移植片を形成する方法であって、該哺乳動物の心臓における心筋組織に細胞を移植することを含み、該細胞が、成体繊維芽細胞、胎児繊維芽細胞、平滑筋細胞、または内皮細胞を含む方法。

31. 哺乳動物の心臓における心筋組織における使用を目的とする治療的移植片であって、該移植片が移植された細胞を含み、該移植細胞が成体繊維芽細胞、胎

児繊維芽細胞、平滑筋細胞、または内皮細胞を含む移植片。

32. 哺乳動物の心臓における心筋組織に植え込むための治療的移植片であって、該移植片が、その上に支持された細胞を有する生物分解性または非生物分解性の足場を含み、該細胞が、成体繊維芽細胞、胎児繊維芽細胞、平滑筋細胞、または内皮細胞を含む移植片。